



SERVICES CULTURE ÉDITIONS
RESSOURCES POUR
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Campagne 2013

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES**

**ÉPREUVE E3 – UNITÉ U33
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE
ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**

SESSION 2013

Durée : 2 heures
Coefficient : 3

Calculatrice non autorisée.

Dictionnaire Français-Anglais autorisé.

Document à rendre et àagrafer avec la copie :

- Document 3 page 5/6

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 6 pages, numérotées de 1/6 à 6/6.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2013
Nom de l'épreuve : Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse	Code : BAE3BC	Page : 1/6

LES VENINS ET LES SÉRUMS ANTIVENIMEUX

Les venins de serpents et de scorpions sont particulièrement dangereux pour l'homme. C'est seulement en 1894 que C. Phisalix et G. Bertrand mettent au point une technique d'atténuation du venin par chauffage leur permettant d'immuniser des chevaux. En récupérant le sérum de ces animaux immunisés, ils démontrèrent que le sérum avait des effets protecteurs sur des animaux et des humains envenimés.

1 - Venins : mode d'action et pharmacologie (31 points)

1.1 - Immunisation par des venins chauffés

Les venins de scorpions et de serpents sont constitués de nombreuses protéines qui sont des neurotoxines de faibles poids moléculaires.

La stratégie initiale d'immunisation consiste à injecter à des animaux des petites quantités à intervalles réguliers des venins chauffés à 80°C pendant 5 minutes. Après immunisation, le sérum de ces animaux est récupéré, purifié pour être utilisé en sérothérapie.

1.1.1 - Justifier l'intérêt du chauffage du venin.

1.1.2 - Préciser le principal type d'anticorps obtenu lors d'une première immunisation et lors des suivantes. Indiquer les intérêts de réaliser des injections répétées.

1.2 - Mode d'action des venins

Du fait de la complexité des venins, il est encore difficile de savoir précisément le mode d'action de chaque neurotoxine. L'une d'elles, l'alpha bungarotoxine agit sur les récepteurs post synaptiques à l'acétylcholine et bloque la transmission neuromusculaire, ce qui provoque une paralysie rapide de la proie.

1.2.1 - L'acétylcholine est un neurotransmetteur. Définir cette catégorie de molécules.

1.2.2 - Le récepteur à l'acétylcholine est un récepteur canal sodique dont la structure est rappelée dans le **document 1**.

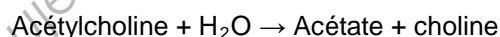
Expliquer comment la fixation de l'acétylcholine sur son récepteur nicotinique provoque une entrée massive d'ions Na⁺.

1.2.3 - Préciser par quel type de transport se fait l'entrée des ions Na⁺. Comparer ce transport à celui d'un transport actif.

1.2.4 - Proposer une explication du mode d'action de l'alpha bungarotoxine au niveau des récepteurs nicotiniques pour comprendre ses effets paralysants.

1.2.5 - Il existe aussi dans certains venins des toxines possédant une activité enzymatique comparable à celle de l'acétylcholine estérase, enzyme normalement présente dans les synapses.

Elle catalyse la réaction suivante :



Expliquer pourquoi ces toxines présentent les mêmes effets physiologiques que ceux de l'alpha bungarotoxine.

1.3 - Pharmacocinétique des venins

Après inoculation intraveineuse, le venin diffuse rapidement dans l'ensemble de l'organisme.

Une courbe de pharmacocinétique par injection intraveineuse du venin est présentée en **document 2**.

1.3.1 - À partir de la courbe « témoin non traité » déterminer les différentes phases pharmacocinétiques du venin.

1.3.2 - Un paramètre important en pharmacocinétique est la biodisponibilité. Définir ce terme et expliquer comment il serait possible de la déterminer à partir du **document 2**.

1.3.3 - Le foie est un des organes qui intervient dans la métabolisation des xénobiotiques.

Décrire les principales modifications hépatiques des xénobiotiques.

- 1.3.4 - Expliquer les conséquences de ces modifications sur l'élimination des xénobiotiques.
- 1.3.5 - Citer le principal organe responsable de cette élimination.
- 1.3.6 - La gravité des envenimations croît avec la quantité du venin présent dans le sang des patients. On parle d'effet dose-dépendants.
 - 1.3.6.1 - Sous forme d'un graphe, représenter une courbe dose réponse (utiliser les axes suivants : % d'effet et concentration en venin).
 - 1.3.6.2 - Définir la dose efficace 50 et la positionner sur le graphe.

2 - Les sérums antivenimeux (29 points)

Tout au long du XX^{ème} siècle, les chercheurs ont tenté d'augmenter l'efficacité des sérums antivenimeux polyclonaux tout en diminuant leurs effets secondaires principalement dus aux intolérances aux protéines de cheval.

2.1 - Composition et amélioration des sérums antivenimeux

- 2.1.1 - Pourquoi ces sérums provoquent-ils des problèmes d'intolérance ?
- 2.1.2 - Une des avancées majeures pour éviter ce problème d'intolérance a consisté à éliminer le fragment de l'immunoglobuline G fixant le complément par une protéolyse ménagée des anticorps.
 - Schématiser précisément une immunoglobuline G en faisant plus particulièrement ressortir la notion de domaine d'immunoglobuline.
 - Préciser les localisations du fragment fixant le complément et celui de la fixation à l'antigène.
 - Localiser sur ce schéma la partie de l'immunoglobuline qui porte les antigènes spécifiques de l'espèce et préciser son nom.
- 2.1.3 - La découverte des anticorps monoclonaux a suscité de grands espoirs pour un usage thérapeutique, espoirs rapidement estompés du fait de l'origine murine de ces anticorps qui étaient alors très mal tolérés par l'homme.
 - Définir les termes suivants : anticorps monoclonaux et anticorps polyclonaux.
 - Citer les principaux avantages d'un anticorps monoclonal par rapport aux anticorps polyclonaux.

2.2 - Principe général de la production d'un anticorps monoclonal

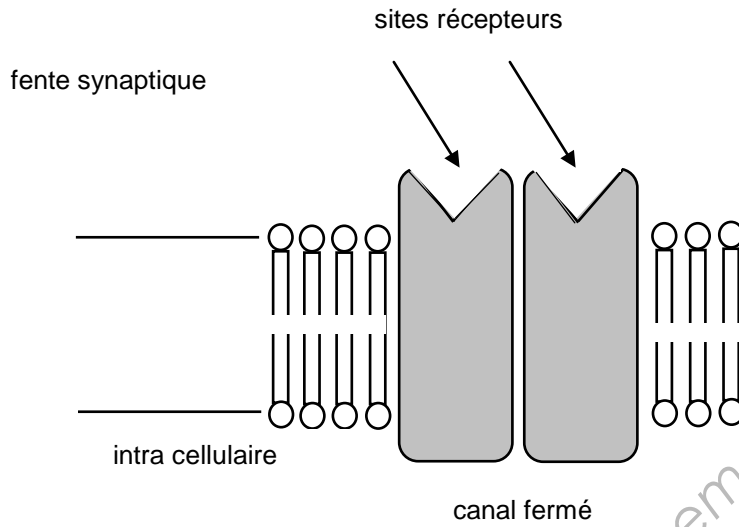
- 2.2.1 - Sur le **document 3** (à rendre avec la copie), repérer les étapes principales d'une production d'anticorps monoclonal.
- 2.2.2 - Les étapes 1 et 2 de la production des anticorps monoclonaux sont détaillées dans le **document 4**.
 - 2.2.2.1 - Préciser l'intérêt d'utiliser des cellules de myélome comme partenaire de fusion.
 - 2.2.2.2 - La sélection des hybridomes est réalisée sur un milieu spécifique : nommer et indiquer les caractéristiques de ce milieu.
 - 2.2.2.3 - Préciser le principe de la sélection des hybridomes.
- 2.2.3 - Les hybridomes sont congelés avant utilisation. Présenter succinctement le protocole de congélation des cellules eucaryotes.
- 2.2.4 - Quels sont les processus généralement utilisés pour amplifier des hybridomes à l'échelle industrielle ?

2.3 - Effets thérapeutiques des sérums antivenimeux

- À partir des années 1970, des études cliniques et pharmacologiques ont permis de mieux comprendre l'effet thérapeutique des sérums antivenimeux. Pour cela, le venin est dosé à intervalles réguliers dans le sang avec ou sans sérums antivenimeux (**document 2**). Les sérums utilisés pour cette étude ont subi une protéolyse ménagée à l'aide de la pepsine ou de la papaïne.
 - 2.3.1 - Définir la valence d'un anticorps. Préciser celle des fragments obtenus après digestion par la papaïne (Fab) et par la pepsine (F(ab')₂).
 - 2.3.2 - À l'appui de la réponse à la question 2.1.2, justifier l'intérêt d'utiliser ces fragments : Fab et F(ab').
 - 2.3.3 - À partir des courbes du **document 2**, déterminer le sérum anti-venin le plus efficace. Justifier la réponse.

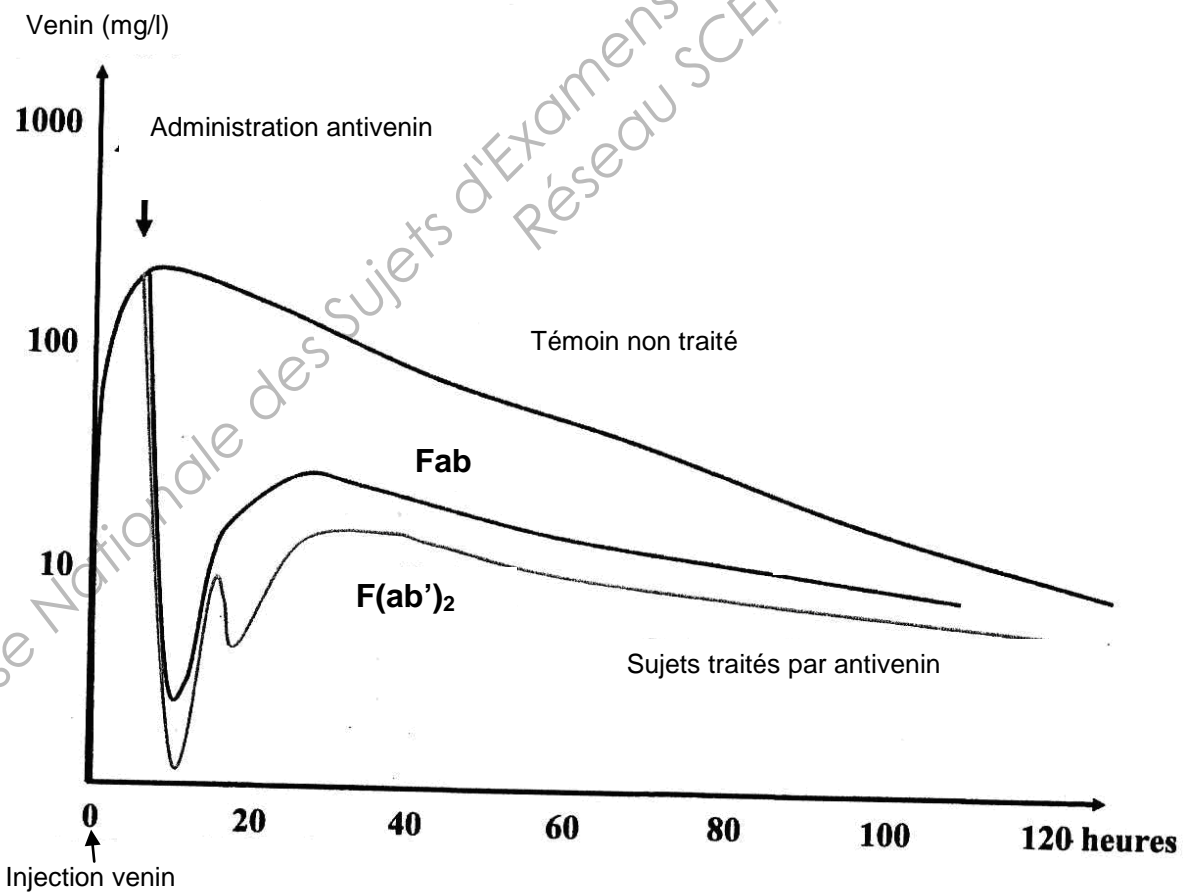
DOCUMENT 1

Structure schématique du récepteur à l'Acétylcholine



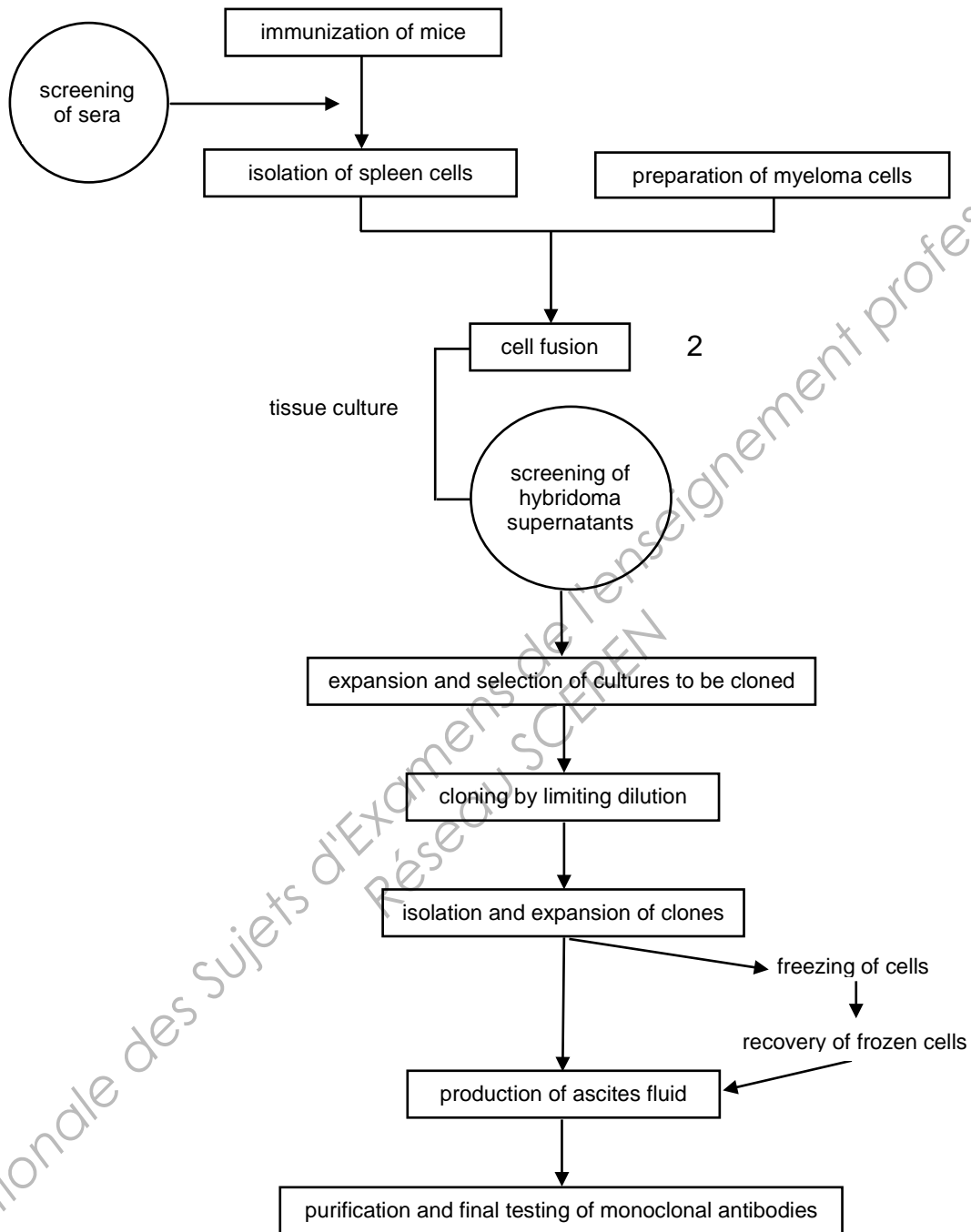
DOCUMENT 2

Évolution des taux plasmatiques de venins (en mg/L) après injection intraveineuse chez l'animal, sans (témoin non traité) ou avec sérum antivenimeux (Fab ou F(ab')₂)



DOCUMENT 3 (à rendre avec la copie)

In part, prepared from Current Protocols in Molecular Biology. Ed: Frederick M. Ausubel 1998.



DOCUMENT 4

Deux étapes de la procédure de production des anticorps monoclonaux :

1: Preparation of Myeloma Cells

Fusing antibody-producing spleen cells, which have a limited life span, with cells derived from an immortal tumor of lymphocytes (myeloma) results in a hybridoma that is capable of unlimited growth. Myeloma cells are immortalized cells that are cultured with 8-azaguanine to ensure their sensitivity to the hypoxanthine-aminopterin-thymidine (HAT) selection medium used after cell fusion. A week before cell fusion, myeloma cells are grown in 8-azaguanine. Cells must have high viability and rapid growth. The HAT medium allows only the fused cells to survive in culture.

2: Fusion of Myeloma Cells with Immune Spleen Cells .

Single spleen cells from the immunized mouse are fused with the previously prepared myeloma cells. Fusion is accomplished by co-centrifuging freshly harvested spleen cells and myeloma cells in polyethylene glycol, a substance that causes cell membranes to fuse. Only fused cells will grow in the special selection medium. The cells are then distributed to 96 well plates with a specific culture medium.